

고지방식이로 유도된 비만 생쥐모델에서 저령차전자탕의 항비만 효과

장순우 · 고영미 · 곽진영 · 안택원*

대전대학교 한의과대학 사상체질과

Abstract

Anti-obesity Effect of Jeoreongchajeonja-tang in a High-fat Diet-induced Obesity Mouse model

SoonWoo Jang · Young-mee Kho · Jin-young Kwak · Taek-won Ahn*

Dept. of Sasang Constitutional Medicine, College of Korean Medicine, Daejeon Univ

Objective

This study investigated the effects of Jeoreongchajeonja-tang in a high-fat diet-induced obesity mouse model.

Methods

The study examined 9-week-old male mice (C57bl/6J) divided into four groups: the normal(C57bl/6J-Nr), control (high-fat diet only; HFD-CTL), positive-control (high-fat diet with *Garcinia cambogia*), and experimental (high-fat diet with Jeoreongchajeonja-tang; HFD-JCT) groups. After 7 weeks, the body weight, food efficiency ratio, organ weight, and visceral fat weight of the mice were measured. Blood serum tests, mRNA, liver histopathology, and epididymis adipocytes were also examined.

Results

Compared with the Control(HFD-CTL) group, the Experimental(HFD-JCT) group given Jeoreongchajeonja-tang showed significant reductions in absolute body weight and food efficiency ratio. The serum alanine aminotransferase, total-cholesterol, triglyceride, low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol, high-density lipoprotein (HDL)-cholesterol, insulin-like growth factor-1, and leptin levels were significantly lower in the experimental group than in the control group. The serum adiponectin levels were significantly higher in the experimental group than in the control group. Compared with the control group, the experimental group showed significant reductions in absolute abdominal subcutaneous fat, epididymal adipose tissue, kidney adipose tissue, intestine adipose tissue, and liver, kidney and spleen adipose tissue weights. The C/EBP- β , leptin, and SREBP1c/ADD1 mRNA expression were significantly lower in the experimental group than in the control group, while the UCP-2 and adiponectin mRNA expression were significantly higher. Compared with the control group, the experimental group showed a significant reduction in the absolute adipocyte area in the liver and epididymal adipose tissue.

Conclusion

Jeoreongchajeonja-tang has an anti-obesity effect. Additional clinical studies are expected.

Key Words: Obesity, Jeoreongchajeonja-tang, obesity mouse model, cholesterol

I. 緒論

과체중과 비만이 다양한 합병증 및 사망과 연관되어 있다는 점은 2500년 전 히포크라테스 시대부터 의료 종사자들에게 알려져 있었다. 비만은 체내 지방의 과잉 축적 상태로, 비만의 정도가 심할수록 대사 증후군의 빈도 및 합병증이 증가하는데, 비만은 관상동맥 질환의 위험을 50% 높일 뿐만 아니라 심혈관계 질환, 관상동맥질환에 의한 사망률을 모두 50% 높인다². 비만은 인슐린 저항성 및 고혈당, 이상지질혈증을 유발함으로써 제2형 당뇨병 발생 위험성을 증가시키며³, 암의 위험성도 증가시킨다⁴. 이처럼 비만은 많은 심각한 합병증을 발생시키기에 의학계에서 비만을 조기에 진단하고 치료하는 것은 주요한 관심 사안이며, 체중을 감량하여 합병증을 예방하는 것이 비만 치료의 일차적인 목표가 된다. 비만 및 대사증후군의 치료는 현대의학에서는 Therapeutic life style change로 일컬어지는 행동치료, 식사치료, 운동치료가 주가 되고 있으며 보조적으로 약물치료가 사용되고 있고 적응증에 따라 고도비만의 경우 수술치료 등을 고려해볼 수 있다. 현대의학에서 비만의 약물 치료는 식사, 운동, 행동수정 요법에 보조적으로만 사용하여야 하며 BMI 30kg/m² 이상, 혹은 BMI 27kg/m² 이상이며 비만관련 합병증이 있어야 하는 적응증이 있어야 고려할 수 있다. 또한, 약물 치료에는 다양한 부작용이 있다. 이에 비만의 약물치료는 폭넓은 임상적용의 한계점을 지닌다⁶. 이로 인해, 비만 치료에 있어 임상에 두루 사용할 수 있는 한의학 및 대체의학 요법에 대한 수요가 있다.

비만의 한방 치료는 BMI, 복부비만의 감소에 효과적이라는 보고가 있으며⁷, 현재 단일 한약복용, 복합 한약 복용 등을 시행하여 비만의 한방치료에 대한 안전성, 효과성, 통계적인 유의성을 입증한 다양한 실험 논문, 증례보고 및 임상연구가 진행되어 왔다⁸. 고는 비만쥐에서 熱多寒少湯의 항비만 효과를 규명하였고⁹, 박은 비만쥐에서 涼膈散火湯의 효과를 규명하였고¹⁰, 고와 김은 太陰調胃湯으로 한약의 비만치료 및 항산화 효과에 대한 보고를 하였다^{11,12}. 따라서,

한약 중 비만 및 대사증후군 치료의 약물 요법으로 활용할 수 있는 약을 추가적으로 조사해볼 필요성이 있다. 위의 실험 및 임상 연구들은 주로 東武 李濟馬 선생이 쓴 東醫壽世保元에 집필된 四象體質醫學의 體質論의 原理에 입각하여 四象體質處方を 비만치료에 적용 및 응용한 것으로 이에 본인도 四象醫學의 體質論의 관점에서 여러 處方 중에 비만에 응용해 볼 수 있는 處方을 고민하여 선정하였다.

東醫壽世保元에서 李濟馬 先生은 사람을 容貌詞氣 性質材幹 體型氣像 病證藥理에 따라 4개의 體質로 분류하였다. 少陽人의 경우 怒性宏抱而哀情促急하여 脾大腎小한 臟局을 지니게 되어, 納積之氣의 太過와 出放之氣의 不足이 되기 쉬우므로 少陽人의 病證은 주로 水穀之氣의 代謝障礙에서 發生하는 疾患이 된다. 그러므로, 少陽人의 保命之主는 陰清之氣가 되며, 근본적인 治療法은 清陽上升 裏陰降濁이 된다¹³. 비만도 이러한 관점에서 病理機轉과 治療法을 생각해볼 수 있다.

豬苓車前子湯은 『東醫壽世保元』 제 9장 「少陽人 脾受寒表寒病論」에 나오는 처방이며 東武 先生은 亡陰證 身熱頭痛泄瀉, 腹痛의 治方으로 豬苓車前子湯을 제시하였다¹⁴. 豬苓車前子湯을 실제로 少陽人 중 偏頭痛 및 急性泄瀉, 小便不利로 亡陰證을 진단받은 환자에 사용하여 치료한 治驗例가 있다¹⁵. 하지만, 東武 先生의 豬苓車前子湯은 기존에 創方의 목표였던 주치증인 身熱頭痛泄瀉, 腹痛외에도 실제 임상에서 다양한 증상에 활용되고 있으며, 豬苓車前子湯과 유사한 구성의 方劑로 少陽人 肥滿方에서 비만 유도 흰쥐 모델에서 유의한 비만 억제 효과 및 지질 대사 장애 예방 효과가 있음을 입증하였고¹⁶ 豬苓車前子湯이 100microgram/ml의 농도에서 유의하게 전지방세포의 분화 및 증식을 억제한다는 보고도 있다¹⁷. 하지만 실질적으로, 豬苓車前子湯이 체중증가량, 식이효율, 혈중 호르몬 단백질 지질 농도, 지단백, 비만 관련 유전자 등에 미치는 영향에 대한 연구는 없는 실정이다.

이에 저자는 豬苓車前子湯의 항비만효과에 대

해 알아보기 위해 비만 동물 모델을 통해 체중증가량 및 식이효율, Creatinine과 AST, ALT, 유리 지방산(fatty acid), 혈중 총콜레스테롤, 혈중 중성지방, 혈중 고밀도 지방단백질, 혈중 저밀도 지방단백질, 혈중 호르몬 단백질(IGF-1, Leptin, Adiponectin), 장기 및 부위별 지방증량의 변화(복부 피하지방, 부고환, 신장, 창자, 간, 신장, 비장)를 측정하였다. 또, 간과 부고환 주변 지방조직에서 비만과 관련된 유전자 발현(AP2/FABP4 mRNA, C/EBP-β mRNA, UCP-2 mRNA, Adiponectin mRNA, Leptin mRNA, SREBP1c/ADD1 mRNA)을 분석하였고 병리조직학적 간과, 부고환, 지방세포크기를 분석하였다. 이를 통해 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 研究材料 및 研究方法

1. 재료

1) 시약 및 실험기기

본 실험에 사용된 시약은 Oil red O, ocarbonate(DEPC), chloroform, trichloroacetic acid, isopropanol, Tri-HCl, KCl, MgCl₂, 적혈구 용혈액(ACK lysis solution), DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) 배양액, dulbecco's phosphate buffered saline(D-PBS), sulforhodamin B(SRB), 2-isopropanol, sodium dodecyl sulfate(SDS), Streptomycin (Gibco, USA)을 사용하였다. HPLC 표준시료는 citric

acid (Sigma, USA)과 epigallocatechin gallate (EGCG) (Sigma, USA)제품을 사용하였다. 우태아혈청 (fetal bovine serum, FBS)은 Hyclone사(Logan, USA) 제품을, Taqman master mix와 SYBR master mix는 ABI (USA)사 제품을, Lepin, IGF-1, Adiponectin ELISA kit R&D system (USA)을, 기타 일반 시약은 특급 시약을 사용하였다.

본 실험에 사용한 기기는 열탕추출기(DWT-1800T, 대웅, Korea), 감압 증류장치(rotary vacuum evaporator, BUCHI B-480, Switzerland), 동결 건조기(freeze dryer, EYELA FDU-540, Japan), CO₂ 배양기(Forma scientific Co., USA), 원심분리기(한일과학, Korea), plate shaker(Lab-Line, USA), spectrophotometer (Shimadzu, Japan), Bio-freezer(Sanyo, Japan), Quantitative Real-Time PCR (Applied Biosystems, USA), ELISA reader (Molecular Devices, USA), HPLC (High performance liquid chromatography ; Waters Co. USA) 등을 사용하였다.

2) 생약 및 생약 추출물 분리

본 실험에서 사용한 저령차전자탕은 정량 후 1ℓ의 증류수를 가하여 2시간동안 전탕추출법 (대용약탕기, 한국)에 의하여 얻은 액을 3 mm 여과지 (Whatman, Maidstone, England)를 이용하여 감압 여과한 후, 여과된 추출물은 감압농축기(Eyela, Japan)를 이용하여 농축한 후, 동결 건조하여(Freezedryer, Matsushita, Japan), 그리고 1첩분량인 54g의 저령차전자탕에서 13.6g의 분말을 얻었다. 동결 건조(Freezedryer, Matsushita, Japan)하여 얻은 분말을 70℃ 초저온 냉동고에 보관 사용하였다. (Table 1).

Table 1. The Composition of Jeoreongchajeonja-tang(JCT)

Herb name	Scientific name	Amounts (g)
茯苓	Poria	8
澤瀉	Rhizoma Alismatis	8
豬苓	Polyporus umbellatus	6
車前子	Semen Plantaginis	6
知母	Anemarrhena asphodeloides Bunge	4
石膏	Gypsum	4
防風	Saposhnikovia divaricata Schischkin	4
荊芥	Schizonepeta tenuifolia Briquet	4
羌活	Rhizoma Notopterygii	4
獨活	Radix Angelicae Pubescentis	4
Total		52

2. 연구방법

1) 비만 유발 동물모델 및 실험설계

Diet Induced Obesity Diet Formulas(D12492) 60 kcal% fat 식이 섭취 (Table 2.)하여 평균체중이 28g~29g사이에 도달하면 9주령부터 저령차전자탕 추출물을 경구 투여용 금속제 존대(Zonde)를 이용하여 위내로 강제 경구투여하였다. 실험군으로는 정상식이를 투여한 Normal군(이하 정상군(C57bl/6J-Nr)), 고지방식이 (High fat diet; HFD)를 투여한 control군(이하 대조군(HFD-CIL)), HFD에 저령차전자탕 300mg/kg를 투여한 군(이하 HFD-JCT), HFD에 *garcinia cambogia* 245mg/kg를 투여한 양성대조군(이하 HFD-GK)으로 나누었으며, 각 그룹당 6마리씩으로 7주 동안 투여하였다. 양성대조군 *Garcinia cambogia*은 건강기능식품으로 보통 사람에게 투여하는 용량을 사람-마우스 상수를 통하여 결정하여 245mg/kg로 결정하였고, 저령차전자탕은 의약품으로 Tablet으로 만들어지게 될 경우를 마우스로 환산하면 300mg/kg가 가장 큰 용량이어서 독성에 대한 확인도 필요하므로 이렇게 용량을 결정하였다.

2) 체중, 식이섭취량 및 식이효율의 측정

식이섭취량 및 체중은 7주간 매주 수요일 9시에

측정하여 기록하였다.

3) 혈청 생화학적 검사

저령차전자탕 추출물을 7주간 투여 후 각 실험동물로부터 분리한 혈장 (plasma)에서 간 기능의 지표인 ALT(alanine transaminase) 및 AST(aspartate transaminase)를, 혈장 및 간의 지질함량의 지표인 총콜레스테롤 (total cholesterol), HDL (High-density lipoprotein), LDL (Low-density lipoprotein), 중성지방(triglyceride), FFA(free fatty acid)의 함량을 생화학자동 분석기 (Hitachi-720, Hitachi Medical, Japan)를 이용하여 측정하였다. Leptin, IGF-1, adiponectin의 수준을 ELISA법으로 측정하였다. 모든 실험과정과 검사법은 진단검사의학적 가이드라인에 준하여 수행하였다.

4) 장기 및 부위별 지방 중량 측정

저령차전자탕 추출물을 7주간 투여 후 복부 피하지방 (abdominal subcutaneous fat), 부고환주변 지방조직 (epididymal adipose tissue), 신장주변 지방조직 (kidney adipose tissue), 창자주변 지방조직 (intestine adipose tissue)의 중량을 산출하였다. 또한 간, 신장, 비장을 적출한 후 조직의 중량을 산출하였고 g 단위를 사용하였다.

Table 2. Diet Induced Obesity Diet Formulas (D12492) 60 kcal% fat

Ingredient	gm	Kcal
Casein, 80 Mesh	200	800
L-Cystine	3	12
Corn Starch	0	0
Maltodextrin 10	125	500
Sucrose	68.8	275.2
Cellulose, BW200	50	0
Soybean Oil	25	225
Lard	245	2205
Mineral Mix, S10026	10	0
Dicalcium Phosphate	13	0
Calcium Carbonate	5.5	0
Potassium Citrate, 1 H2O	16.5	0
Vitamine Mix, V10001	10	40
Choline Bitartrate	2	0
FD&C Blue Dye#1	0.05	0
Total	773.85	4057

5) 간 부고환 지방세포 유전자 발현 분석

저령차전자탕을 7주간 투여 후 각 실험동물로부터 적출한 간과 지방조직들의 유전자 발현 양상을 real-time PCR 증폭법을 사용하여 알아보았다. 부고환 주변 지방조직(epididymis adipose tissue) 및 간(liver)등 조직은 RNAsolB(Tel-Test) 용액을 사용하여 각 조직으로부터 RNA를 추출한 뒤 One-step SYBR Green PCR kit (AB science)를 사용하여 cDNA 및 real-time PCR 분석을 하였다. Real time quantitative PCR은 Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR system (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 수행하였다 (Table 3). 유전자 발현은 TaqMan probe (FAM dye-labeled, ABI, USA), internal standard는 마우스 GAPDH probe set; Endogenous Control (VIC®/MGB Probe, Probe limited) from Applied Biosystems (4352339E)를 사용하였고, primer의 최종 농도가 200 nM이 되게 반응시켰다. Real time quantitative PCR의 조건은: pre-denaturation은 2 min at 50 °C, 10 min 94 °C, 그리고 40 cycles을 0.15 min at 95 °C, 1 min at 45 °C에서 수행하였다. 실험군과 대조군은 internal standard로 G3PDH를 사용하여 target group의 Quantitative PCR $y = x(1+e)^n$ $x =$ starting quantity $y =$ yield $n =$ number of cycles $e =$ efficiency을 계산하여 RQ (relative quantitative)을 측정하였다.

6) 병리조직학적 분석

저령차전자탕을 7주간 투여 후 주요 장기들에 대한 조직병리학적 관찰을 수행하기 위해 간과 지방조직등

을 절취하여 10% neutral buffered formalin에 24시간 동안 고정시킨 다음 graded alcohol로 탈수시키고 파라핀으로 포매하여 block을 제작한 다음 microtome으로 4 μm 두께의 조직절편을 제작하여 hematoxylin & eosin (H&E) 염색 및 오일-레드 O를 시행한 뒤 xylene clearing을 거쳐 permount로 처리한 후 광학현미경(NIKON, Japan)위에서 100x배율로 관찰하였고, 조직 또는 장기별 특이 병변의 유무를 관찰하였다. 지방세포크기는 부고환 지방조직을 H&E 염색을 시행한 후 광학현미경 Nikon ACT-1 version 2.51 (Nikon, Japan)를 사용하여 50 μm 단위로 설정하여 지방세포 크기를 측정하였다.

3. 통계 처리

각 실험군 결과 값은 SPSS 통계프로그램을 사용하여 통계 처리하였으며, unpaired student's T-test에서 $p < 0.05$ 이하의 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

III. 研究結果

1. 체중변화, 체중증가량, 식이효율에 미치는 영향에 미치는 영향

실험 시작일과 종료일의 체중의 변화는 정상군 (C57BL/6J_Nr)에서는 약 17.5% 증가하였으며, 대조군 (HFD-CTL)에서는 약 90%가 증가하였고, 양성대조군 (HFD-GK)에서는 약 64.4% 증가, 실험군(HFD-JCT)에

Table 3. Mouse Probe & Oligonucleotide

Gene	Probe & Primer	Sequence
C/EBP-β	Forward	5'-AAGCTGAGCGACGAGTACAAGA-3'
	Reverse	
UCP-2	sence	5'-TTCAAATGAGATTGTGGGAAAAT-3'
	antisence	5'-ACCGATACAGTACAGTACAGTA-3'
Adiponectin	sence	5'-TTCAAATGAGATTGTGGGAAAAT-3'
	antisence	5'-ACCGATACAGTACAGTACAGTA-3'
Leptin	sence	5'-AACCCCTACTGAACTCAGATTGTTAG-3'
	antisence	5'-TAAGTCAGTTTAAATGCTTAGGG-3'
SREBP1c/ADD1	Forward	5'-AGCCTGGCCATCTGTGAGAA-3'
	Reverse	

서는 약 54.5%의 증가율을 보였다. 대조군(HFD-CTL)의 체중 평균은 44.1±2.1 g으로 정상군(C57BL/6J_Nr) 26.8±1.7 에 비하여 64.5% 높은 수준의 체중 증가를 보였다.

양성대조군(HFD-GK)은 평균 6.6 g, 실험군(HFD-JCT)은 대조군(HFD-CTL)과 비교하여 평균 8.1 g 감소 경향을 나타냈다. 실험군(HFD-JCT)이 고지방식이에 의한 체중증가 유도를 효율적으로 억제할 수 있음을 알 수 있었다.

일일 평균 식이 섭취량에 대한 일일 평균 체중 증가량의 비율을 계산하여 식이효율을 구하였다. 대조군(HFD-CTL)의 식이효율은 15.97±0.39%로 정상군(C57BL/6J_Nr) 3.02±0.33에 비해 약 5배의 유의미한 증가를 보였다(p<0.001). 실험군(HFD-JCT)의 식이효율은 12.01±0.60%로, 대조군(HFD-CTL)에 비해 유의미한 차이를 보였다(p<0.001). 양성대조군(HFD-GK) 14.89±0.94%에 비해서도 실험군(HFD-JCT)의 식이효율은 약 19.3% 낮은 것을 확인할 수 있었다 (Table 4).

2. 혈청 생화학적 변화에 미치는 영향

1) 독성 검사

(1) 신장독성(creatinine) 에 미치는 영향

혈청 중 creatinine의 함량을 분석한 결과, 정상군(C57BL/6J_Nr)은 0.23 mg/dL, 대조군(HFD-CTL)은 0.28 mg/dL, 양성대조군(HFD-GK)은 0.30 mg/dL, 실험군(HFD-JCT)은 0.27 mg/dL이 측정되었다. 대조군

(HFD-CTL)과 실험군(HFD-JCT)의 creatinine 수준에 차이가 거의 없었으므로 신장독성은 나타나지 않는 것을 확인할 수 있었다 (Table 5).

(2) 간독성(AST, ALT) 에 미치는 영향

혈청 중 AST, ALT의 함량을 분석한 결과, 정상군(C57BL/6J_Nr)은 AST 80.8 U/L, ALT 42.67 U/L, 대조군(HFD-CTL)은 AST 98.8 U/L, ALT 80.5 U/L, 양성대조군(HFD-GK)은 AST 108.0 U/L, ALT 38.33 U/L, 실험군(HFD-JCT)은 AST 85.3 U/L, ALT 25.83 U/L 이 측정되었다. 대조군(HFD-CTL)은 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비해 AST 수치가 유의하게 높았고(p<0.01), ALT 수치도 유의하게 높게 나타났다 (p<0.01). AST는 대조군(HFD-CTL)에 비해 실험군(HFD-JCT)에서 약 13.6% 감소하였으며, 유의미하지 않았다. ALT는 대조군(HFD-CTL)에 비해 실험군(HFD-JCT)이 67.9% 유의미하게 감소 (p<0.001)하였다. (Table 5).

2) 혈중 지질학적 변화에 미치는 영향

(1) 혈중 총콜레스테롤(T-Cholesterol)량에 미치는 영향

혈청 중 T-cholesterol의 함량을 분석한 결과, 정상군(C57BL/6J_Nr)은 107.8 mg/dL, 대조군(HFD-CTL)은 213.8 mg/dL, 양성대조군(HFD-GK)은 194.8 mg/dL, 실험군(HFD-JCT)은 176.0 mg/dL이 측정되었다. 대조군(HFD-CTL)의 혈중 T-cholesterol 수치는 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비해 약 98.3% 유의하게 높았고 (p<0.001), 양성대조군(HFD-GK)은 대조군(HFD-CTL)

Table 4. Average Body weight, Food intake, Body weight gain, and Food Efficiency Ratio

Group	AverageBody weight (g)	Food intakes (g/day)	Body weight gain (g/day)	Food efficiency ratio (FER, %)
Normal	26.8	2.71	0.082±0.01	3.02±0.33
HFD-CTL	44.1	2.67	0.427±0.01	15.97±0.39***
HFD-GK_245	37.5	2.01	0.299±0.02	14.89±0.94**
HFD-JCT_300	36.0	2.16	0.260±0.01	12.01±0.60***

Normal; normal diet group, Control; High Fat Diet-Negative Control group, HFD-GK; High Fat Diet-Positive Control group(garcinia cambogia), HFD-JCT: High Fat Diet-Jeongchajeonjatang administered group(extracts, 300mg/kg). The values are expressed as mean±SEM(n=6). The significance were determined by Student t-test; *p < 0.05, **p < 0.01 and ***p < 0.001 (compared with ND), *p<0.05, **p<0.01, and ***p<0.001(compared with HFD-CTL).

에 비해 약 8.8% 유의하게 낮았다($p < 0.001$). 실험군(HFD-JCT)의 T-cholesterol 수치는 대조군(HFD-CTL)에 비해 유의하게 감소($p < 0.001$)하였다. 실험군(HFD-JCT)과 양성대조군(HFD-GK)의 T-cholesterol 수치를 비교하였을 때에도 실험군(HFD-JCT)이 약 9.6% 낮은 결과를 보였다 (Table 5).

(2) 혈중 중성지방(Triglyceride)량에 미치는 영향

혈청 중 중성지방(Triglyceride)의 함량을 분석한 결과, 정상군(C57BL/6J_{Nr})은 109.7 mg/dL, 대조군(HFD-CTL)은 172.2 mg/dL, 양성대조군(HFD-GK)은 107.2 mg/dL, 실험군(HFD-JCT)은 111.2 mg/dL이 측정되었다. 대조군(HFD-CTL)의 혈중 Triglyceride 수치는 정상군(C57BL/6J_{Nr})에 비해 약 56.9% 유의하게 높았고 ($p < 0.01$), 양성대조군(HFD-GK)은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 37.7% 유의하게 낮았다 ($p < 0.001$). 실험군(HFD-JCT)의 Triglyceride 수치는 대조군(HFD-CTL)에 비해 유의하게 감소($p < 0.001$)하였다 (Table 5).

(3) 혈중 고밀도지방단백 저밀도지방단백 콜레스테롤(HDL-cholesterol, LDL-cholesterol)량에 미치는 영향

혈청 중 HDL-cholesterol, LDL-cholesterol의 함량을 분석한 결과, 대조군(HFD-CTL)은 정상군(C57BL/6J_{Nr})에 비하여 HDL-cholesterol이 유의하게 높았고 ($p < 0.01$), LDL-cholesterol은 약 41.8% 유의하게 높았다($p < 0.001$). 양성대조군(HFD-GK)은 대조군(HFD-CTL)에 비해 HDL-cholesterol이 약 2.5% 높았지만 유의미하지 않았고, LDL-cholesterol은 약 19.5% 유의미하게 낮은 결과를 보였다 ($p < 0.001$). 실험군(HFD-JCT)은 대조군(HFD-CTL)에 비해 HDL-cholesterol이 약 8.4% 유의미하게 낮았으며($p < 0.01$), LDL-cholesterol은 약 33.8% 유의미하게 낮았다 ($p < 0.001$) (Table 5).

3. 혈중 호르몬 단백질량 변화에 미치는 영향

1) 혈중 IGF-1 단백질량에 미치는 영향

혈중 IGF-1의 함량을 분석한 결과, 대조군(HFD-CTL)

의 IGF-1 수치는 정상군(C57BL/6J_{Nr})에 비해 약 38배 유의하게 높았고($p < 0.001$), 양성대조군(HFD-GK)은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 18.2% 유의미하게 낮았다($p < 0.01$). 실험군(HFD-JCT)의 IGF-1 수치는 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 24% 유의하게 감소($p < 0.001$)하였다. 실험군(HFD-JCT)과 양성대조군(HFD-GK)의 IGF-1 수치를 비교하였을 때에도 실험군(HFD-JCT)이 약 7% 낮은 결과를 보였다 (Table 5).

2) 혈중 Leptin 단백질량에 미치는 영향

혈중 Leptin의 함량을 분석한 결과, 대조군(HFD-CTL)의 Leptin 수치는 정상군(C57BL/6J_{Nr})에 비해 유의미하게 높았고 ($p < 0.001$), 양성대조군(HFD-GK)은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 22.4% 유의미하게 낮았다 ($p < 0.01$). 실험군(HFD-JCT)의 Leptin 수치는 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 22.6% 유의하게 감소 ($p < 0.001$) 하였다.(Table 5).

3) 혈중 Adiponectin 단백질량에 미치는 영향

혈중 Adiponectin의 단백질량을 분석한 결과, 대조군(HFD-CTL)의 Adiponectin 수치는 정상군(C57BL/6J_{Nr})에 비해 약 40.8% 유의미하게 낮았고 ($p < 0.001$), 양성대조군(HFD-GK)은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 5.4% 높았다. 실험군(HFD-JCT)의 Adiponectin 수치는 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 27.9% 유의하게 높았다 ($p < 0.01$). 실험군(HFD-JCT)과 양성대조군(HFD-GK)의 Adiponectin 수치를 비교하였을 때에도 실험군(HFD-JCT)이 약 25.3% 높은 결과를 보였다 (Table 5).

4. 장기 및 부위별 지방 중량 변화에 미치는 영향

1) 복부 피하지방, 부고환, 신장, 창자 주변 중량 변화에 미치는 영향

복부피하지방, 부고환, 신장, 창자 주변을 구분하여 적출한 후 지방조직의 중량을 측정하였다. 대조군

(HFD-CTL)의 복부 피하지방량은 정상군(C57BL/6J_Nr)의 복부 피하지방량에 비하여 약 8.69배 유의하게 증가하였고($p < 0.001$) 부고환주변 지방량은 정상군(C57BL/6J_Nr)의 부고환지방량에 비하여 약 6.9배 유의하게 증가하였다($p < 0.001$). 대조군(HFD-CTL)의 신장주변 지방량은 정상군(C57BL/6J_Nr)의 신장 주변 지방량에

비하여 10.25배 유의하게 증가하였고($p < 0.001$) 창자 주변 지방량은 정상군(C57BL/6J_Nr)의 창자주변 지방량에 비하여 5.08배 유의하게 증가하였다($p < 0.001$). 대조군(HFD-CTL)에 비해 실험군(HFD-JCT)의 복부 피하지방, 부고환, 신장, 창자주변 지방량이 모두 감소하는 것을 확인하였다 (Figure 1).

Table 5. The Effect of Jeoreongchajeonja-tang Extracts on Blood Biochemistry Parameters in Mice Fed with High Fat Diet

Group	Normal	HFD-CTL	HFD-GK_245	HFD-JCT
Creatinine	0.23	0.28	0.30	0.27
AST	80.8	98.8**	108.0	85.3
ALT	42.67	80.5**	38.33***	25.83***
Total cholesterol	107.8	213.8***	194.8***	176.0***
Triglyceride	109.7	172.2**	107.2***	111.2***
HDL-cholesterol	45.2	79.5**	81.5	72.8**
LDL-cholesterol	14.6	21.0***	16.9***	13.9***
IGF-1	2317.45	88635.01***	72483.78**	67346.23***
Leptin	243.41	40328.21***	31259.55***	31187.57***
Adiponectin	188571.24	111446.71***	117557.64	150377.41**

Normal; normal diet group, Control; High Fat Diet-Negative Control group, HFD-GK; High Fat Diet-Positive Control group(garcinia cambogia), HFD-JCT: High Fat Diet-Jeoreongchajeonjatang administered group(extracts, 300mg/kg). The values are expressed as mean \pm SEM(n=6). The significance were determined by Student t-test; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ (compared with ND), * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and *** $p < 0.001$ (compared with HFD-control).

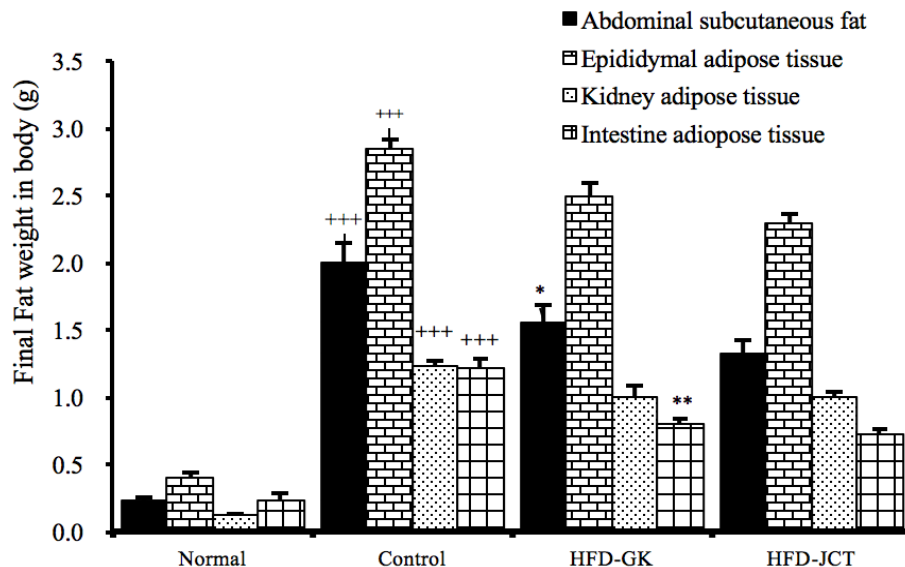


Figure 1. The effect of Jeoreongchajeonja-tang extracts on adipose weight of mice fed with high fat diet

The abdominal subcutaneous fat, epididymal adipose tissue, kidney adipose tissue, intestine adipose tissue weight of each group of mice was detected for 7 weeks. Normal; normal diet group, Control; High Fat Diet- Control group, HFD-GK; High Fat Diet-Positive Control group(garcinia cambogia), HFD-JCT: High Fat Diet-Jeoreongchajeonjatang administered group(extracts, 300mg/kg). The values are expressed as mean \pm SEM(n=6). The significance were determined by Student t-test; * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ (compared with ND), * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, and *** $p < 0.001$ (compared with HFD-control).

2) 간, 신장, 비장 중량변화에 미치는 영향

장기를 적출하여 간, 신장, 비장의 중량을 칭량하였다. 대조군(HFD-CTL)의 간무게(liver weight)는 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비해 약 51.5% 유의하게 증가하였고 ($p < 0.001$) 신장 무게(kidney weight)는 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비해 약 18.9% 증가하였다. 비장 무게(spleen weight)는 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비하여 평균 약 0.02 감소하였다. 양성대조군(HFD-GK)의 간, 신장, 비장의 무게는 모두 대조군(HFD-CTL)에 비해 낮은 것을 확인할 수 있었다. 실험군(HFD-JCT)은 대조군(HFD-CTL)에 비해 간 무게(liver weight) 약 30.4% 유의하게 감소하였고 ($p < 0.001$), 신장 무게(kidney weight)는 약 4.5% 감소, 비장 무게(spleen weight)는 약 22.2% 감소하였다 (Figure 2).

5. 비만관련 유전자 발현에 미치는 영향

1) AP2/FABP4 mRNA 유전자 발현 분석

간의 AP2/FABP4 mRNA 유전자 발현을 분석한 결과 대조군(HFD-CTL)의 유전자 발현이 1.405 ± 0.311 로 정상군(C57BL/6J_Nr)의 0.37 ± 0.033 에 비하여 약 3.79배 유의한 증가를 나타내었다($p < 0.01$). 양성대조군(HFD-GK)은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 4.62배 유의하게 낮았다($p < 0.01$). 실험군(HFD-JCT)의 AP2/FABP4 mRNA 발현량은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 37.7% 낮았지만 유의하지 않았다 (Table 6).

2) C/EBP-β mRNA 유전자 발현 분석

간의 C/EBP-β mRNA 유전자 발현을 분석한 결과 대조군(HFD-CTL)의 유전자 발현이 2.051 ± 0.651 로 정상군(C57BL/6J_Nr)의 0.288 ± 0.017 에 비하여 약 7.12배 유의한 증가를 나타내었다($p < 0.01$). 양성대조군(HFD-GK)은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 4.46배 유의

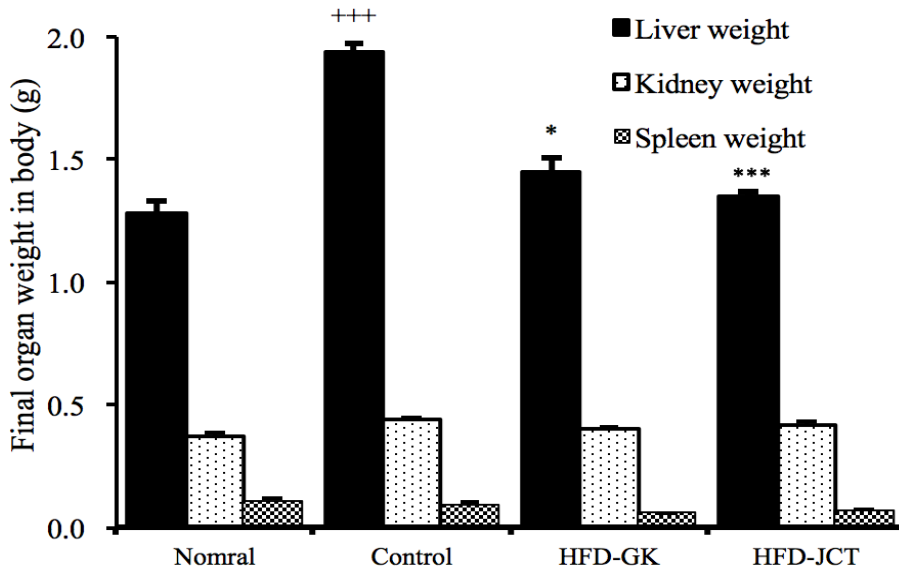


Figure. 2. The effect of Jeoreongchajeonja-tang extracts on organ weight of mice fed with high fat diet

The liver, kidney, spleen weight of each group of mice was detected for 7 weeks. Normal; normal diet group, Control; High Fat Diet-Control group, HFD-GK; High Fat Diet-Positive Control group(garcinia cambogia), HFD-JCT: High Fat Diet-Jeoreongchajeonjatang administered group(extracts, 300mg/kg). The values are expressed as mean±SEM(n=6). The significance were determined by Student t-test; +p < 0.05, +++ p < 0.01 and +++p < 0.001 (compared with ND), *p<0.05, **p<0.01, and ***p<0.001(compared with HFD-control).

하게 낮았다($p < 0.05$). 실험군(HFD-JCT)의 C/EBP- β mRNA 발현량은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 2.72배 유의하게 감소($p < 0.05$)하였다 (Table 6).

3) UCP-2 mRNA 유전자 발현 분석

간의 UCP-2 mRNA 유전자 발현을 분석한 결과 대조군(HFD-CTL)의 유전자 발현이 0.584 ± 0.240 로 정상군(C57BL/6J_Nr)의 0.970 ± 0.073 에 비하여 약 39.7% 낮은 결과를 보였지만 유의하지 않았다. 양성대조군(HFD-GK)은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 79.7% 높았지만 유의하지 않았다. 실험군(HFD-JCT)의 UCP-2 mRNA 발현량은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 3.21배 유의하게 증가하였다($p < 0.01$)하였다 (Table 6).

4) Adiponectin mRNA 유전자 발현 분석

간의 Adiponectin mRNA 유전자 발현을 분석한 결과 대조군(HFD-CTL)의 유전자 발현이 0.840 ± 0.249 로 정상군(C57BL/6J_Nr)의 1.009 ± 0.156 에 비하여 낮은 결과를 보였지만 유의하지 않았다. 양성대조군(HFD-GK)은 대조군(HFD-CTL)에 비해 높은 결과를 보였지만 유의하지 않았다. 실험군(HFD-JCT)의 Adiponectin mRNA 발현량은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 2.5배 유의하게 ($p < 0.001$) 높은 결과를 보였다 (Table 6).

5) Leptin mRNA 유전자 발현 분석

간의 Leptin mRNA 유전자 발현을 분석한 결과 대

조군(HFD-CTL)의 유전자 발현이 2.737 ± 0.761 로 정상군(C57BL/6J_Nr)의 1.137 ± 0.228 에 비하여 약 2.40배 유의한 증가를 나타내었다($p < 0.05$). 양성대조군(HFD-GK)은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 2.24배 유의하게 낮았다($p < 0.05$). 실험군(HFD-JCT)의 Leptin mRNA 발현량은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 63.1% 유의하게 감소($p < 0.05$)하였다 (Table 6).

6) SREBP1c/ADD1 mRNA 유전자 발현 분석

간의 SREBP1c/ADD1 mRNA 유전자 발현을 분석한 결과 대조군(HFD-CTL)의 유전자 발현이 1.391 ± 0.236 로 정상군(C57BL/6J_Nr)의 0.097 ± 0.010 에 비하여 약 14.3배 유의한 증가를 나타내었다($p < 0.001$). 양성대조군(HFD-GK)은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 46.5% 유의하게 낮았다($p < 0.05$). 실험군(HFD-JCT)의 SREBP1c/ADD1 mRNA 발현량은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 37.6% 유의하게 감소($p < 0.05$)하였다 (Table 6).

6. 병리조직학적 분석

1) 간의 병리조직학적 분석

고지방 식이로 유도된 흰 쥐 모델에서 시험물질에 따른 간 조직검사 (H&E 염색, Oil Red O 염색)를 나타낸 조직 사진이다. 비만이 유발된 대조군(HFD-CTL)의 간 조직에서는 지방이 간세포질에 축적되어 지방구들이 거대소포성(macrovesicular)으로 변화되어 현미경

Table 6. The Effect of Jeoreongchajeonja-tang extracts on the mRNA Expressions in The Liver of Mice Fed with High Fat Diet

Group	Normal	HFD-CTL	HFD-GK_245	HFD-JCT
AP2/FABP4 mRNA	0.37 ± 0.033	$1.405 \pm 0.311^{##}$	$0.30 \pm 0.018^{**}$	0.875 ± 0.122
C/EBP- β mRNA	0.288 ± 0.017	$2.051 \pm 0.651^{##}$	$0.459 \pm 0.079^*$	$0.753 \pm 0.078^*$
UCP-2 mRNA	0.970 ± 0.073	0.584 ± 0.240	1.050 ± 0.245	$1.878 \pm 0.256^{**}$
Adiponectin mRNA	1.009 ± 0.156	0.840 ± 0.249	0.912 ± 0.101	$2.104 \pm 0.184^{***}$
Leptin mRNA	1.137 ± 0.228	$2.737 \pm 0.761^*$	$1.221 \pm 0.204^*$	$1.009 \pm 0.416^*$
SREBP1c/ADD1 mRNA	0.097 ± 0.010	$1.391 \pm 0.236^{###}$	$0.744 \pm 0.195^*$	$0.867 \pm 0.111^*$

The mRNA expressions in liver of mice fed with high fat diet was detected for 7 weeks. C57bl/6J-Nr; Normal; normal diet group, Control; High Fat Diet-Control group, HFD-GK; High Fat Diet-Positive Control group(garcinia cambogia), HFD-JCT: High Fat Diet-Jeoreongchajeonjatang administered group(extracts, 300mg/kg). The values are expressed as mean \pm SEM(n=6). The significance were determined by Student t-test; $^*p < 0.05$, $^{##}p < 0.01$ and $^{###}p < 0.001$ (compared with ND), $^*p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$, and $^{***}p < 0.001$ (compared with HFD-control).

상에 큰 지방구들이 보이며, 또한 H&E 염색과 Oil Red O 염색시 회색 지방축적세포들이 넓게 분포하는 지방간이 나타난다. 정상군(C57BL/6J_Nr)과 비교하여, 고지방식으로 비만이 유도된 대조군(HFD-CTL)에서는 회색지방축적세포들이 전체에 존재하고, 거대세포성 (macrovesicular) 지방증도 많이 존재하였다. 대조군 (HFD-CTL)과 비교하여 실험군(HFD-JCT)에서는 회색 지방축적세포들과 거대세포성 (macrovesicular) 지방증이 개선되었다 (Figure 3A).

2) 부고환 지방 세포의 병리조직학적 분석

고지방 식이로 유도된 흰 쥐 모델에서 부고환 주변 지방조직 형태를 나타낸 조직 사진이다. 대조군 (HFD-CTL)은 광학 현미경 상에서 고지방식이 섭취로 인해 비만이 유발되면서 지방세포의 크기가 증가하였다. 대조군(HFD-CTL)과 비교하여 양성대조군(HFD-GK)과 실험군(HFD-JCT)에서는 부고환 주변 지방조직 내 지방세포 크기 증가가 억제되었다 (Figure 3B).

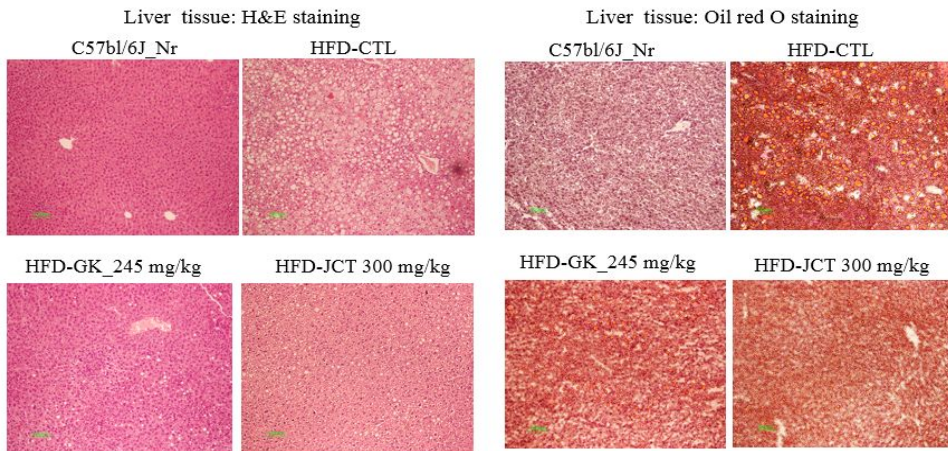


Figure 3A. The effect of **Jeoreongchajeonja-tang extracts** on histological profiles of liver in mice fed with high fat diet

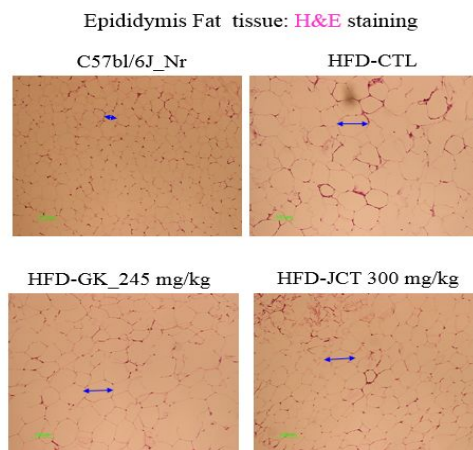


Figure 3B. The effect of **Jeoreongchajeonja-tang extracts** on histological profiles of epididymal adipose tissue in mice fed with high fat diet

H&E and Oil red O staining of 5-mm paraffin-embedded liver tissue epididymal sections of each group of mice. Normal; normal diet group, Control; High Fat Diet-Control group, HFD-GK; High Fat Diet-Positive Control group(garcinia cambogia), HFD-JCT: High Fat Diet-Jeoreongchajeonjatang administered group (extracts, 300mg/kg).

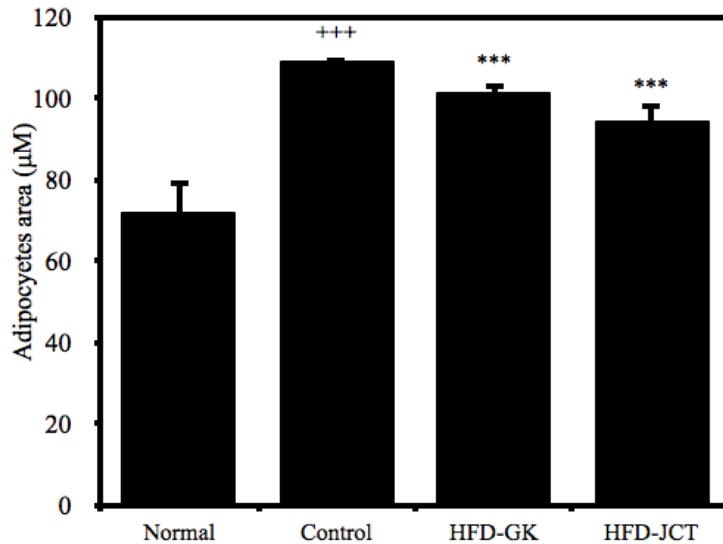


Figure 4. The effect of Jeoreonghajeonja-tang extracts on adipocyte area in mice fed with high fat diet

The adipocyte area of each group of mice was detected for 7 weeks.

Normal; normal diet group, Control; High Fat Diet-Control group, HFD-GK; High Fat Diet-Positive Control group(garcinia cambogia), HFD-JCT: High Fat Diet-Jeoreonghajeonjatang administered group(extracts, 300mg/kg).

3) 지방세포 크기 변화에 미치는 영향

대조군(HFD-CTL)의 지방세포 크기는 108.8 μm 로 정상군(C57BL/6J_Nr)의 71.5 μm 에 비하여 지방세포 크기가 2.61배 유의하게 증가였다 ($p < 0.001$). 양성대조군(HFD-GK)의 지방세포 크기는 101.5 μm 로 대조군(HFD-CTL)에 비해 평균 7.3 μm 유의하게 작았다 ($p < 0.001$). 실험군(HFD-JCT)의 지방세포 크기는 100.0 μm 로 대조군(HFD-CTL)에 비해 평균 8.8 μm 가 유의하게 작았으며($p < 0.001$), 양성대조군(HFD-GK)에 비해서도 평균 크기가 작은 결과를 보였다 (Figure 4).

IV. 考察

현대의학에서는 비만을 체질량 지수(BMI)에 의해 성인 비만 기준은 25kg/m² 이상으로 정의하고, 복부 비만은 허리 둘레로 성인 남자에서는 90cm, 여자에서는 85cm 이상으로 정의한다. 비만의 원인을 크게 원발

성 원인, 이차성 원인 2가지로 분류하는데, 생활 습관, 연령, 인종, 유전적 요인, 장내 미생물, 환경 화학 물질 및 독소 등은 원발성 원인이며 유전 및 선천성 장애, 약물, 신경 및 내분비계 질환, 정신 질환 등이 이차성 원인이다. 비만은 제 2형 당뇨병, 고혈압, 이상지질혈증, 관상동맥질환, 대사증후군 및 뇌경색, 비 알코올 지방간질환, 통풍과 같은 합병증의 발생율을 높인다. 따라서 비만 치료의 목표는 체중감량을 통해 비만의 합병증 개선과 예방이며, 치료 목표는 개개인의 건강 상태와 조건에 맞게 현실적으로 정해야 한다. 치료 전 체중의 3~5%를 감량하더라도 비만의 동반질환 및 합병증을 의미 있게 개선시킬 수 있다는 보고가 있다. 따라서 개개인의 상태에 맞추어 체중을 줄이는 것은 비만의 일차적 치료 목표가 된다. 현대의학에서는 비만의 치료를 행동치료, 식사치료, 운동치료를 기본으로 하고, 보조적인 방법으로 약물치료를 병행한다. 현대의학에서 약물 요법의 적응증은 BMI 30kg/m² 이상인 경우, 비만 관련 합병증이 있으면서 식이, 운동,

행동요법으로 성공적으로 개선되지 않는 BMI 27kg/m² 이상의 환자인 경우에 약물 요법의 대상이 된다⁵.

비만 치료약들은 현대의학에서 크게 두 가지 카테고리리로 분류한다. 첫째는 식욕억제제이고 둘째는 위장관 지방흡수 억제제이다. 식욕억제제는 시상하부의 노르아드레날린, 도파민, 세로토닌 수용체를 대상으로 작용한다. 위장관 지방흡수 억제제는 선택적으로 위장관에서 지방의 흡수를 줄인다. 식욕억제제는 배안쪽, 가쪽 시상하부 부분에 작용하여 노르아드레날린, 도파민의 신경전달을 증폭시키고, 도파민은 감소시키는 방식으로 작용하며 이의 결과로 포만감을 증가시키고 배고픔을 줄이는 효과를 지닌다. 대표적으로 Phentermine/topiramate와 Lorcaserin이 있다. Phentermine/topiramate는 식욕억제제로 아드레날린 수용체에 작용하며, 무작위 이중맹검 시험에서 양성대조군에 비해 유의성 있는 체중감소 효과가 있었지만, 마비, 입마름, 변비, 불면, 산모에 투여시 선천성 태아 구개열 등의 심각한 부작용이 있었다. Lorcaserin은 5-HT_{2C} 수용체 작용물질로 무작위 이중맹검 시험에서 위약대조군에 비해 유의한 체중감소를 나타냈으나, 두통, 어지러움, 구역감 등의 부작용이 있었다. 위장관 지방흡수 억제제에는 대표적으로 Orlistat(상품명 Xenical)이 있다. 이것은 lipase 억제제인 lipostatin의 파생물로, 위와 소장에서 lipase의 활성 부위에 공유결합하여 lipase가 지방을 지방산으로 가수분해하는 것을 막는다. Orlistat은 다중 무작위 이중맹검 시험에서 위약대조군에 비해 유의한 체중감소 효과를 보였지만, 복용자의 10% 이하에서 복부팽만, 변실금, 지방변, 증가된 배변의 부작용을 보였다. 비만의 확고한 약물 치료법이 없기에 현대의학에서는 아직 도파민, 노르아드레날린 수용체 작용제, 아편 수용체 억제제, glucagon-like peptide 1 수용체 등을 활용한 새로운 비만 치료제가 여전히 개발 및 연구 중에 있다⁶. 따라서, 유의한 체중감소 효과와 동시에 심각한 부작용이 없는 개인별 체질맞춤 한의학 비만 약물 치료제 개발의 필요성 역시 대두되는 상황이다.

한의학에서는 肥滿을 肥, 肥胖, 肥人, 肉人, 肥

貴人 등으로 표현하며 그 原因에 대하여 『黃帝內經』에서는 過食肥甘膏粱厚味, 久臥, 久坐, 少勞, 素稟之體 및 外感濕邪 및 內傷七情 등으로 인한 氣滯, 痰濁, 水濕, 瘀血 등이 肥滿을 誘發한다고 記錄하고 있다. 비만의 發生機轉을 韓醫學에서는 根本적으로 장부의 氣虛로 보았으며, 運化機能의 無力으로 因하여 이차적으로 痰濕이 發生하고 이것이 水液代謝를 失調하여 肥滿의 原因이 된다고 보았다^{18,19}. 따라서, 韓醫學에서는 肥滿의 原因인 痰飲을 없애고 氣血의 循環을 도와 運化機能을 도와주는 藥物療法, 行動療法, 食餌療法, 針治療 등이 그 治療法이 된다²⁰. 電針刺戟과 韓藥의 並合療法이 肥滿 治療에 有意한 效果를 지닌다는 점이 밝혀졌다²¹⁻²³.

四象醫學에서는 肥滿에 대하여 特別히 言及한 部分은 없으나, 『東醫壽世保元』 『四端論』에서 “肺以呼 肝以納 肝肺者 呼吸氣液之門戶也. 脾以納 腎以出 腎脾者 出納水穀之府庫也” 라고 하였으니, 少陽人의 肥滿을 出納水穀의 問題로 解釋할 수 있으며, 단순한 體重의 增加란 側面보다 全身的 體內機能 代謝調節의 失調, 즉 體質에 따른 臟腑의 大小에 의한 差異에서 오는 病的不均衡常態로 肥滿을 理解해볼 수 있을 것이다²⁴.

四象體質 處方 및 藥材는 肥滿을 治療하는 데에 있어 임상적으로 널리 사용되어 왔다. 또한 肥滿 治療에 사용할 수 있는 다양한 실험적 근거를 지닌다. 涼膈散火湯이 Gold thioglucose로 高脂肪食餌로 誘發된 肥滿 白鼠에서 체중증가 억제, 간 지질 및 체지방 증가 억제 효과가 있었다는 보고가 있고¹⁰, 太陰調胃湯이 비만 쥐에서 체지방을 억제하고 전지방 세포인 3T3-L1의 증식을 억제한다고 보고되었으며²⁵ 少陽人 肥滿方이 비만 유도 생쥐 모델에서 체중감소, LDL-cholesterol, Triglyceride 감소에 유의성을 보였으며¹⁶, 加味太陰調胃湯이 부분비만 일본인을 대상으로 BMI 감소에 유의한 효과를 나타냈다는 보고도 있다¹¹.

豬苓車前子湯은 少陽人 脾受寒表寒病 亡陰

證 身熱頭痛泄瀉를 치료하는 처방¹⁴으로 택사(澤瀉)·적복령(赤茯苓) 각 8g, 저령(豬苓), 차전자(車前子) 각 6g, 지모(知母), 석고(石膏)·강활(羌活)·독활(獨活)·형개(荊芥)·방풍(防風) 각 4g로 構成되어 있는데 (Table.1) 四象醫學적 측면에서 方劑의 構成原理는 강활(羌活)·독활(獨活)·형개(荊芥)·방풍(防風)은 脾局의 陰氣를 降陰하는 약한 정도의 解表寒而降表陰을 하고, 지모(知母), 석고(石膏)를 1돈씩 소량 사용하여 清胃熱하며, 택사(澤瀉)·적복령(赤茯苓), 저령(豬苓)·차전자(車前子)로 腎局의 陰氣를 降陰하는 利水而降表陰하여 小便을 통하게 하는 약으로 해석할 수 있다²⁶. 실험적으로는, 豬苓車前子湯에 들어간 약제 중 방풍(防風) 차전자(車前子) 형개(荊芥) 지모(知母) 독활(獨活)은 Lipase inhibitor인 지방흡수 억제제 Orlistat과 비교하여 유사한 수준의 Lipase 활성 저해 효과가 입증되었다²⁷. 또한, 豬苓車前子湯은 100microgram/ml의 농도에서 유의하게 전지방세포의 분화 및 증식을 억제한다는 보고가 있다¹⁷. 이처럼, 豬苓車前子湯은 少陽人의 肥滿處方으로서 실험 및 임상에서 두루 사용되어 왔음에도 실질적으로 豬苓車前子湯의 항비만효과에 대해 규명한 연구는 없었다. 이에 저자는 豬苓車前子湯이 고지방 식이로 비만을 유도한 마우스의 체중변화, 식이효율, 혈청 생화학검사(Total cholesterol, triglyceride, Creatinine, AST, ALT, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol), 혈중 호르몬 단백질(IGF-1, Leptin, Adiponectin), 장기 및 부위별 지방 중량의 변화(복부 피하지방, 부고환, 신장, 창자, 간, 신장, 비장)를 측정하였다. 또, 간과 부고환 주변 지방조직에서 비만과 관련된 유전자 발현 (AP2/FABP4 mRNA, C/EBP-β mRNA, UCP-2 mRNA, Adiponectin mRNA, Leptin mRNA, SREBP1c/ADD1 mRNA)을 분석하였고 병리조직학적 간과, 부고환, 지방세포크기를 분석하였다. 이를 통해 豬苓車前子湯의 항비만 효과를 확인하였다.

본 연구에서는 정상군(C57BL/6J_Nr)과 고지방식이를 투여한 대조군(HFD_CTL), 고지방식이 투여 후 *Garcinia cambogia*를 투여한 양성대조군(HFD-GK),

HFD에 豬苓車前子湯 300mg/kg을 투여한 실험군(HFD-JCT)으로 나누었으며 각 그룹당 6마리씩으로 나누어 7주 동안 실험하였다.

체중변화에 미치는 영향에서는 실험군(HFD-JCT)의 체중이 평균 8.1g 감소하면서 고지방식이에 의한 체중증가 유도를 효율적으로 억제할 수 있음을 알 수 있었다 (Table 4). 일일 평균 식이 섭취량과 일일 평균 체중 증가량을 통해 식이효율을 보았을 때, 실험군(HFD-JCT)의 식이효율은 12.01±0.60%로, 대조군(HFD_CTL)의 15.97±0.39%에 비해 유의미한 차이를 보였다(p<0.001). 양성대조군(HFD-GK) 14.89±0.94%에 비해서도 실험군(HFD-JCT)의 식이효율은 약 19.3% 낮은 것을 확인할 수 있었다 (Table 4). 이는 식이 섭취량에 비해 체중의 증가가 크지 않다는 것을 의미한다. 실험군(HFD-JCT)에서 식이 섭취가 위장관에서 잘 흡수되지 않았거나 실험군(HFD-JCT)의 대사량이 증가하였다는 의미이다.

실질적으로 豬苓車前子湯에 의한 체중증가의 억제가 다양한 장기에서 일어났는데, 실질 장기의 중량측정과 병리조직학적(현미경적) 측면에서 이를 확인하였다. 복부와 부고환, 신장, 창자주변은 내장 지방이 가장 많이 쌓이는 부분으로, 이들의 중량을 측정하여서 豬苓車前子湯의 체지방 감소에 대한 효과를 확인하였다. 실험 종료 후 실험군(HFD-JCT)이 대조군(HFD_CTL)에 비해 복부 피하지방, 부고환, 신장, 창자 주변 지방량 모두 감소하는 것을 확인할 수 있었다 (Figure 1). 또한, 간, 신장, 비장의 장기 무게의 변화에서는 실험군(HFD-JCT)의 간 무게(liver weight)는 약 30.4% 감소하였으며 대조군(HFD_CTL)에 비해 유의하였다. (p<0.001), 신장 무게(kidney weight)는 약 4.5%, 비장 무게(spleen weight) 약 22.2% 감소하였다. 하지만 대조군(HFD_CTL)에 비해 유의하지는 않았다 (Figure. 2).

간과 부고환 지방세포의 병리조직학적 분석에서, 정상군(C57BL/6J_Nr)에 비해 고지방식이 섭취에 의해 비만이 유발된 대조군(HFD_CTL)은 현미경상에서 회식지방축적세포와 거대세포성(macrovesicular) 지방세포가 전체적으로 눈에 띄게 많이 존재하였다. 반면,

실험군(HFD-JCT)에서는 상기 세포들이 현저하게 줄어들었다(Figure 3A). 부고환 주변 지방조직 형태를 관찰했을 때도, 대조군(HFD-CTL)에 비해 실험군(HFD-JCT)군에서는 부고환주변 지방조직 내 지방세포의 형태변화가 적어, 정상군(C57BL/6J_Nr)과 유사하였다(Figure 3B). 실질적으로, 부고환주변 지방조직의 크기를 측정하였을 때에도 실험군(HFD-JCT)의 지방세포 크기는 100.0 μ m로 대조군(HFD-CTL)에 비해 평균 8.8 μ m가 유의하게 작았다(Figure 4). 따라서, 위의 소견들을 통해 猪苓車前子湯이 실질 장기의 중량을 감소시켰고, 병리조직학적 측면에서 지방조직의 크기를 감소시켰음을 입증하였다.

猪苓車前子湯은 체지방의 중량 감소뿐만 아니라 혈청학적 지표인 Liver Function test, Kidney Function test, 혈청 Cholesterol에서도 개선효과도 나타내었다. 혈청 중 creatinine의 함량을 분석한 결과, 정상군(C57BL/6J_Nr)은 0.23 mg/dL, 대조군(HFD-CTL)은 0.28 mg/dL, 양성대조군(HFD-GK)은 0.30 mg/dL, 실험군(HFD-JCT)은 0.27 mg/dL이 측정되었다(Table 5). Creatinine은 근육의 creatine phosphate에서 생성된 대사산물로, 신장에서 배설 후 세뇨관에서 재흡수가 거의 이루어지지 않고 배설되기 때문에 혈중 creatinine은 신장 기능을 진단하는데 중요한 지표가 된다. 검사 결과 대조군과 실험군의 혈중 creatinine 수준에 차이가 거의 없었으므로 猪苓車前子湯이 신장의 여과 및 재흡수, 배설 작용에 있어 이상을 일으키지 않는다는 것을 의미한다. 간수치(AST, ALT)에 있어서 실험군(HFD-JCT)의 혈중 AST 수치는 대조군(HFD-CTL)에 비해 유의하지는 않았으나 13.6% 감소하였고, ALT는 대조군(HFD-CTL)에 비해 67.9% 유의미하게 감소하였다($p < 0.001$) (Table 5). 혈청 AST, ALT는 간세포의 변성과 괴사가 진행되어 transaminase가 혈중 유리되어 높아짐에 따라 증가하는 것으로 간 조직 손상의 지표가 되며, AST, ALT 효소의 활성도는 흰 쥐에서 고지방식이, 간염, 지방간, 간암에서 간 실질 세포의 장애로 증가하는 것으로 보고되고 있다²⁸. 따라서 猪苓車前子湯은 간 독성이 없으며, 오히려 고지방식

이로 인해 유도될 수 있는 비알코올성 지방간을 예방할 수 있는 효과가 기대된다.

혈중 지질학적 분석 결과에서 실험군(HFD-JCT)의 총콜레스테롤(T-cholesterol) 수치는 대조군(HFD-CTL)에 비해 유의하게 감소하는 것을 확인했다($p < 0.001$). 양성대조군(HFD-GK)에 비해서도 실험군(HFD-JCT)군의 수치가 약 9.6% 낮았다(Table 5). 또한, 혈중 중성지방(Triglyceride)량에서 실험군(HFD-JCT)의 중성지방(Triglyceride) 수치는 대조군(HFD-CTL)에 비해 유의하게 감소($p < 0.001$)하였다(Table 5). 중성지방(Triglyceride)은 사람과 동물의 체지방을 구성하는 주요 구성요소로, VLDL(very-low-density lipoprotein)과 chylomicron의 주요 구성성분이 되고, 혈중에서는 lipoprotein lipase에 의해 지방산과 글리세롤로 분해되어, lipoprotein에 둘러싸여 adipose fat과 liver에서 양방향으로 지방을 수송한다. 콜레스테롤은 세포막의 구성성분이자 중성지방(triglyceride)과 함께 대표적인 인체 내 지질로서, 혈관의 강화유지, 호르몬 생산, 담즙 생산에 관여하지만 수치가 증가하는 경우 중성지방과 함께 동맥경화나 순환기 질환의 주요 원인이 된다²⁹. 실험군(HFD-JCT)이 대조군(HFD-CTL)에 비해 HDL-cholesterol은 약 8.4% 유의미하게 높았으며($p < 0.01$) (Table 5), LDL-cholesterol은 실험군(HFD-JCT)이 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 33.8% 유의미하게 낮았다($p < 0.001$) (Table 5). HDL은 대식세포로부터 콜레스테롤을 제거하고, 항산화, 혈전방지, 혈관 내피세포 기능 유지를 통해 죽상경화증을 방어한다고 한다³⁰. 따라서, HDL이 높아지는 식이요법을 할수록 심혈관계 질환의 위험성을 낮춘다는 보고가 있으며³¹, 반면, 혈중에 순환하는 LDL은 대식세포에 축적되어 거품세포를 유발시키고 죽상경화반을 형성하는 데에 일조한다³². 혈중 지질 농도를 감소시키는 약제들을 처치함으로써 LDL이 산화될 위험성을 감소시키고 이를 통해 아세틸콜린에 대한 혈관운동성 반응을 촉진시킴으로써, 혈관내피세포를 정상화시킬 수 있다³³. 따라서 猪苓車前子湯이 혈중 LDL 농도를 낮춰주고 HDL 농도를 증가시킴으로써, 비만의 합병증인 죽상동맥경화증, 심혈관질환의

치료 및 예방에 사용할 수 있는 가능성을 확인할 수 있었다.

豬苓車前子湯은 이외에도 비만관련 다양한 인자들에 영향을 주고 있었는데, 우선, 인슐린유사성장인자(Insulin-like growth factor, IGF)는 성장 호르몬에 의존한 성장인자로, 혈액중의 IGF-1는 비만인 경우 내장지방에서의 Adiponectin 생산이 감소하고 높아진 insulin에 의해 IGF-1 활성이 높아진다³⁴. 혈중 IGF-1의 발현량을 분석한 결과 실험군(HFD-JCT)은 대조군(HFD-CTL)에 비하여 IGF-1의 발현량이 약 24% 유의하게 감소 ($p < 0.001$)하였고 양성대조군(HFD-GK)의 IGF-1 수치를 비교하였을 때에도 실험군(HFD-JCT)이 약 7% 낮은 결과를 보였다 (Table 5).

Leptin은 염색체 7q32에 있는 Ob gene의 산물이며, adipocyte에 의해 주로 분비되는 단백질 호르몬이다. Leptin의 생산과 혈중 농도는 BMI, 체내 지방과 강력한 상관관계를 지닌다³⁵. 에너지가 과잉 축적될 경우 Leptin이 지방세포에서 분비되기 때문에 비만인의 대부분 leptin 농도가 증가되어 있다.

본 연구에서 흰 쥐의 혈중 Leptin의 함량을 분석한 결과 실험군(HFD-JCT)의 Leptin 수치는 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 22.6% 유의하게 감소($p < 0.001$)하였고, 실험군(HFD-JCT)과 양성대조군(HFD-GK)의 Leptin 수치를 비교하였을 때에는 유의한 차이가 없었다 (Table 5). mRNA level에서 Leptin mRNA 발현량은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 63.1% 유의하게 감소 ($p < 0.05$) 하였다 (Table 6).

Adiponectin은 지방조직에서 분비되는 cytokine으로 혈중 유리지방산 농도를 감소시키고, 지질 상태를 개선시키고, 혈당 조절에 도움을 주며, 당뇨병자에서 염증을 줄여준다³⁵. adiponectin은 비만 시에는 농도가 감소하며, 비만 쥐 모델에서 adiponectin의 투여가 비만으로 인한 인슐린 저항성을 개선시킨다는 보고가 있다³⁶. 본 연구에서는 흰 쥐의 혈중 Adiponectin 단백질량을 분석한 결과, 실험군(HFD-JCT)의 Adiponectin 수치는 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 27.9% 유의하게 높았다 ($p < 0.01$), (Table 5). 또한 mRNA level에서도

실험군(HFD-JCT)의 Adiponectin mRNA 발현량은 대조군(HFD-CTL)에 비해 2.5배 유의하게 높았다($p < 0.001$) (Table 6), 豬苓車前子湯은 Adiponectin mRNA와 Adiponectin 발현량을 증가시킴으로서 비만의 합병증인 인슐린 저항성 및 제 2형 당뇨병, 대사증후군에 대한 치료에 사용할 수 있는 가능성을 확인할 수 있었다.

豬苓車前子湯이 비만 관련 유전자 발현에 미치는 영향을 알아보기 위해 간의 AP2/FABP4 mRNA, C/EBP- β mRNA, UCP-2 mRNA, SREBP1c/ADD1 mRNA 유전자 발현을 분석하였다. 지방세포 유전자 조절부위에 전사 활성 인자가 활성화되면 지방전구세포에서 성숙한 지방세포로의 분화가 이루어진다. 이러한 지방세포 분화를 조절하는 인자는 AP2/FABP4, C/EBPs, SREBPs mRNA 등이 있다³⁷.

실험군(HFD-JCT)에서 대조군(HFD-CTL)에 비해 AP2/FABP4 mRNA가 약 37.7% 감소하였지만 유의하지는 않았다. 반면, 양성대조군(HFD-GK)은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 4.6배 유의하게 낮았다 ($p < 0.01$) (Table 6).

C/EBP- β (CCAAT/enhancer-binding protein beta) mRNA는 C/EBP- β 를 발현하는 mRNA이며, 번역된 단백질은 지방세포의 분화 초기 단계를 유도하는 역할을 한다. C/EBP- β 를 과하게 발현하는 경우 지방생성 자극과 관계없이 지방세포생성을 촉진시킨다는 보고가 있다³⁸. 실험군 (HFD-JCT)의 C/EBP- β mRNA 발현량은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 2.72배 유의하게 낮게 나타났다 ($p < 0.05$) (Table 6). 비만의 초기 분화와 지방세포생성 촉진 신호를 豬苓車前子湯이 mRNA 수준에서 감소시켜 항비만 효과가 있음을 알 수 있다.

UCP-2 mRNA는 mitochondrial uncoupling protein 2를 만드는 mRNA인데 Mitochondrial uncoupling proteins(UCP)는 Mitochondrial anion carrier proteins(MACP) 중 하나이며, ATP를 생산하는 산화적 인산화 과정과는 구별되는 proton leak을 통해 nonshivering thermogenesis에 관여한다. 즉, proton을 미토콘드리아에서 ATP 대신 열로 발생시켜 에너지 소비를 증가시키는 단백질이다³⁹. 본 실험에서 실험군(HFD-JCT)의 UCP-2

mRNA 발현량은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 3.21배 유의하게 증가하였다 ($p < 0.01$) (Table 6). 따라서 猪苓車前子湯이 미토콘드리아에서 열 생산을 증가시키고 에너지 소비를 촉진시켜 빠른 에너지 소비를 유도함을 알 수 있었다.

SREBP-1 mRNA는 지방의 합성과 수송에 영향을 주는 유전자로, 비만 환자가 체중 감량을 하면 SREBP1c/ADD1 발현이 감소한다⁴⁰. 본 실험에서 猪苓車前子湯 투여군의 SREBP1c/ADD1 mRNA 발현량은 대조군(HFD-CTL)에 비해 약 37.6% 유의하게 감소 ($p < 0.05$)하였다 (Table 6). 이상의 결과를 통해 猪苓車前子湯이 간 및 부고환 지방 세포에서의 비만관련 유전자 발현에 mRNA level에서 유의한 영향을 끼친다는 사실을 확인할 수 있었다.

이상의 연구를 통해 猪苓車前子湯이 체중을 감소시키고 식이효율을 떨어뜨리며 (Table 4) 이는 구체적으로 조직학적 검사에서 猪苓車前子湯이 복부, 간, 부고환, 지라의 지방량을 감소시켰고, (Figure 1) 병리조직검사에서는 간과 부고환에서 지방세포의 형태 변화 및 크기 증가를 억제하였음을 입증하였다. (Figure 3A, 3B, 4) 또한, 猪苓車前子湯이 혈중 총콜레스테롤, 중성지방, LDL-cholesterol을 낮추고 HDL-cholesterol을 높임을 확인하였다 (Table 5). 이것은, 猪苓車前子湯이 혈청 단백질 호르몬인 Leptin, IGF-1 Adiponentin 뿐만 아니라 AP2/FABP4 mRNA, C/EBP- β mRNA, UCP-2 mRNA, Leptin mRNA, Adiponentin mRNA, SREBP1c/ADD1 mRNA 등 mRNA level에서 작용한 결과로 추정된다 (Table 6).

猪苓車前子湯에 들어간 약재 중 방풍(防風) 차전자(車前子) 형개(荊芥) 지모(知母) 독활(獨活)은 Orlistat과 유사한 지방산화효소(Lipase) 활성 저해 효과가 입증되었고²⁷, 猪苓車前子湯은 100microgram/ml의 농도에서 유의하게 전지방세포의 분화 및 증식을 억제한다는 보고가 있다¹⁷. 현대의학에서 비만에 사용하는 약물 중 지방흡수억제제로 분류된 Orlistat(Xenical)도 Lipase inhibitor로서 작용한다⁶. 猪苓車前子湯가 위의 연구들을 보아 Orlistat과 마찬가지로 지방흡수

억제제의 개념으로 항비만 효과가 있는 것인지에 대해서는 추가적인 연구가 필요하다.

본 연구는 猪苓車前子湯이 실질적으로 항비만 효과가 있는지, 또, 단백질, mRNA level에서 어떻게 작용하는 지에 대하여 밝혀내었다. 하지만 약의 기전에 대한 연구는 추가적으로 필요하다.

저자는 비만 유도 마우스에게 猪苓車前子湯을 투여하여 비만 억제 단백질 및 비만 관련 유전자 발현과 관련된 유의한 데이터를 얻었다. 추가적으로 猪苓車前子湯이 Lipase에 어떤 기전으로 작용하는지, Orlistat(Xenical)과 같은 지방 흡수 억제제와 猪苓車前子湯의 상호작용, 효과성 및 독성에 대한 비교 연구 및 실험이 추가적으로 필요할 것으로 사료된다.

V. 結論

고지방 식이로 숫컷 C57bl/6 생쥐에 비만을 유도한 후 저령차전자탕(JCT)을 300mg/kg로 투여한 마우스에서 체중변화, 식이효율, 혈청 생화학적 검사, 혈청 Leptin, IGF-1, adiponectin 검사, 장기 및 부위별 지방 중량 측정, 간, 부고환 지방세포 유전자 발현 분석, 병리조직학적 분석을 통하여 측정된 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 실험군(HFD-JCT)은 체중 증가를 유의하게 억제하였다.
2. 실험군(HFD-JCT)은 식이 효율을 유의하게 억제하였다 ($p < 0.001$).
3. 실험군(HFD-JCT)은 대조군(HFD-CTL)과 혈청 Creatinine 농도에 유의한 차이가 없었다.
4. 실험군(HFD-JCT)은 혈청 AST는 감소하였으나 유의미하지 않았고, ALT는 유의미하게 감소하였다 ($p < 0.001$).
5. 실험군(HFD-JCT)은 혈청 중 총콜레스테롤(T-Cholesterol)이 유의하게 감소($p < 0.001$)하였으며, 중성지방(Triglyceride)도 유의하게 감소($p < 0.001$)

하였고, HDL-cholesterol은 유의미하게 높았고 ($p<0.01$), LDL-cholesterol은 유의하게 낮았다 ($p<0.001$).

6. 실험군(HFD-JCT)은 IGF-1 수치가 유의하게 감소($p<0.001$)하였다.
7. 실험군(HFD-JCT)은 혈중 Leptin이 유의하게 낮았고($p<0.001$) Adiponectin은 유의하게 높았다 ($p<0.01$).
8. 실험군(HFD-JCT)은 복부피하지방, 부고환, 신장, 창자 주변의 지방조직의 증량이 유의하게 감소하였다.
9. 실험군(HFD-JCT)은 간 무게, 신장 무게, 비장 무게가 감소하였다. 간 무게는 유의하게 감소하였다 ($p<0.001$).
10. 간의 유전자 발현 검사 결과 실험군(HFD-JCT)은 AP2/FABP4 mRNA 발현은 낮았지만 유의하지 않았고, C/EBP- β mRNA 발현은 유의하게 감소($p<0.05$)하였고, UCP-2 mRNA 발현은 유의하게 증가($p<0.01$)하였으며, Adiponectin mRNA 발현은 유의하게 증가($p<0.001$)하였고, Leptin mRNA 발현은 유의하게 감소($p<0.05$)하였고, SREBPc/ADD1 mRNA는 유의하게 감소($p<0.05$)하였다.
11. 병리조직 분석 결과 실험군(HFD-JCT)은 간의 회식지방축적세포들과 거대세포성(macrovesicular) 지방증이 현저하게 개선되었으며, 부고환주변 지방 조직 내 지방세포 증가가 억제되었고, 지방세포 크기는 유의하게 작았다 ($p<0.001$).

이상의 결과는 저령차전자탕(JCT)이 고지방사료로 비만을 유도한 마우스의 항비만 작용에 효과가 있음을 나타내며 향후 비만의 예방과 치료에 저령차전자탕이 유용하게 활용될 수 있을 것이라 예상된다.

VI. Acknowledgement

상기 연구는 과학기술정보통신부 '체질 특성에 따른 대사성 질환의 치료 약물 및 기기 임상 연구 (과제번호 : 2015M3A9B6028311)의 지원을 받아 수행되었음.

VII. References

1. Bray GA. The Battle of the Bulge: A History of Obesity Research, Dorrance, Pittsburgh 2007.
2. Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. The of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic and meta-analysis. BMC Public Health 2009;9:88.
3. Lenz M, Richter T, Muhlhauser I. The morbidity and mortality associated with and obesity in adulthood: a systematic review. Dtsch Arztebl Int 2009;106(40): 641-8.
4. Oh SW, Yoon YS, Shin SA. Effects of excess weight on cancer incidences depending on cancer sites and histologic findings among men: Korea National Health Insurance Corporation Study. J Clin Oncol 2005;23(21):4742-54.
5. Kang Jae hun, Kang Joon Goo, Kang Ji Hun et al. Korean Obesity Treatment Guideline 2014, Korean Society For The Study Of Obesity, 2014. (Korean)
6. Dennis L.Kasper, Anthony S.Fauci, Dan L.Longo et al. Harrison's Principles Of Internal Medicine 19th edition McGraw-Hill Education. 2015.
7. Lee, Sung-Hyun, Lee, Jae-Sung, The Reductive Effects of Oriental Medicine on the Body Fat and Abdominal Obesity, The Society of Korean Medicine for Obesity Research. 2001;1(1):33-42.(Korean)
8. Moon Soo Jung, Review of Clinical Studies on Oriental Medicine Treatment for Obesity in the Korean Literature, Master Dissertation, Wonkwang University, 2010.(Korean)

9. Go Ga Yeon, Anti-obesity effect of Yeoldahanso-tang on high fat diet-induced obesity mice. Doctoral Dissertation, Daejeon University, 2016.
10. Park Jae-Hyoung, Jeon Byung-Hoon, Kim Kyung-Yo, Effects of Ryangkeogsanwhatang on the Adipocyte induced by Gold thioglucose in the Rat, The Journal of Korean Oriental Medical Society 1996;17(2). (Korean)
11. Go Nam-Gyeong, Lee Yong-Ho, Min Deul-Le, Korean Medical Obesity Treatments on Localized Fat in Three Japanese. J Korean Med Obes Res 2015;15(1):51-54. (Korean)
12. Kim Hye-Ju, Ahn Hong-Seok, Oh Eun-Ha, et al. Effect of Taeyeumjowee-tang on the Body Composition, Serum Lipid Level and Antioxidant Enzyme Activity of Obese Female College Students. 2011;23(3):391-401.(Korean)
13. Lee Jae Ma, 東醫壽世保元, The 2nd Chapter. 四端論, 2-10,1894.(Korean)
14. Lee Jae Ma, 東醫壽世保元, The 9th Chapter 脾受寒表寒病論, 9-22,1894.(Korean)
15. Park Eun-Ah, A clinical case study of Yin Exhausted Syndrome in Two Soyangin Patients, J of Sasang Constitutional Medicine 2006;18(3):210-215.(Korean)
16. Park In Sun, The Inhibitory effects of So-yangin Bimanbang on the Obese-Mice induced by High-Fat Diet. Master Dissertation, Daejeon University, 2010.
17. Sung hwan Moon, Byng hee Koh, Il byung Song, The effects of proliferation and differentiation on adipocyte 3T3-L1 by herbs and herbal prescriptions of Soeumin and Soyangin, Journal of KyungHee Oriental Medicine College. 1998;21(1).(Korean)
18. Hong-won Sik. Hwnag-jenaegyong. Seoul:Oriental Medicine Research Publication. 1991:61, 94, 219, 220, 275.(Korean)
19. Kim Sung-Hoon, Lee Byung-Joo. The Discussion of the Concept, Diagnosis, Treatment of Obesity in Korean Medicine References. Journal of Hachwa Medicine. 1998;7(1):533-541.(Korean)
20. Lee HY, Yoon KH, Seo BI, Park GR, Yoon MC, Shen ZB, Cui HH, Shin SS. Molecular biologic mechanism of obesity by GGEx18. Kor J Herbology. 2011; 26(1):65-74.(Korean)
21. Jang YJ, Cho JH, Song BJ. Effect of Taeyeumjowee-tang and electroacupuncture combined-therapy on obesity. J Korean Orient Assoc Stud Obes. 2001;1(1): 77-83.(Korean)
22. Hwang DS, Ahn SJ, Lee KS, Kim JS, Kim YS, Shin HT. Effect of electro-acupuncture on regional fat by measuring thigh circumference. J Korean Orient Assoc Stud Obes 2005;5(1):1-8.(Korean)
23. Choi HS, Choi S, Lee YJ. Compative prospective short-term study on effect of electro-acupuncture on thigh circumference. J Korean Orient Assoc Stud Obes. 2003;3(1):61-7.(Korean)
24. Kim Kyung-yo et al, The Effect of Taesoeum-in, Soyang-in Prescriptions in a Gold thioglucose induced obesity mouse model. Journal Of Sasang Constitutional Medicine. 1989;3(1):57-61.(Korean)
25. Lee GJ, Jeon BH, Kim KG. Effects of Taeyeumjowee-tang on obesity of mouse and induced adipocyte 3T3-L1. J Sasang Med. 1996;8(2):219-8. (Korean)
26. Kwon Oh-Won, Kim Bae-Su, Lee Eui-ju et al, The Origin, Changes and Compositive Principles of Jeoryoungchajeonja-tang, J Sasang Constitut Med 2016;28(2):103-109.(Korean)
27. Kim Jung-Hwa, Kim Jong-Won. Experimental Atudy on Anti-obesity Effect According to Inhibitory Effect against Lipase Activity of Sasang Constitution Medicines. Korean J. Oriental Physiology & Pathology 2005;19(3):710-715.(Korean)
28. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. Gastroenterology 1994;107:1103.

29. Kathleen DP et al. *Mosby's Manual of Diagnostic and Laboratory Tests*, fifth Edition. Mosby, 2002.
30. Stein O, Stein Y. Atheroprotective mechanisms of HDL. *Atherosclerosis* 1999;144:285-301.
31. Kitamura A, Iso H, Naito Y, et al. High-density lipoprotein cholesterol and premature coronary heart disease in urban Japanese men. *Circulation*. 1994;89:2533-9.
32. Iuliano L, Mauriello A, Sbarigia E, et al. Radiolabeled native low-density lipoprotein injected into patients with carotid stenosis accumulates in macrophages of atherosclerotic plaque : effect of vitamin E supplementation. *Circulation* 2000;101:1249.
33. Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC, et al. The effect of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med* 1995; 332:488.
34. Kim JS, Park JH, Cho HS et al. Effect of YGF251 on Secretion of IGF-1 in Human Blood. *Korean J. Biotechnol. BIOENG.* 2002;17(4):403-8.(Korean)
35. Meier U, Gressner AM. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. *Clin Chem* 2004;50:1511.
36. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, et al. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med* 2001;7:941.
37. Brun, R.P., Kim, J.B., Hu, E., et al. Adipocyte differentiation: a transcriptional regulatory cascade. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 1996;8:826-832.
38. Cao Z, Umek RM, McKnight SL. "Regulated expression of three C/EBP isoforms during adipose conversion of 3T3-L1 cells". *Genes & Development.* 1991; 5(9):1538-52.
39. Vidal-Puig A, Solanes G, Grujic D, Flier JS, Lowell BB "UCP3: an uncoupling protein homologue expressed preferentially and abundantly in skeletal muscle and brown adipose tissue". *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;235(1):79-82.
40. Ribot J, Rantala M, Kesaniemi YA, et al. Weight loss reduces expression of SREBP1c/ADD1 and PPARgamma2 in adipose tissue of obese women. *Pflugers Arch.* 2001; 441(4):498-505.